

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta
Katedra zoologie

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Ekologická a evoluční biologie



Lukáš Pazdera

Fyziologické adaptace související s délkou života u endotermních
živočichů

*Physiological adaptations associated with body size and longevity
in endothermic vertebrates*

Bakalářská práce

Praha 2017

Vedoucí bakalářské práce: MVDr. Oldřich Tomášek, Ph.D.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 24. srpna 2017

Lukáš Pazdera

Děkuji svému školiteli MVDr. Oldřichu Tomáškoví Ph.D. za odborné konzultace a trpělivost. Současně bych rád poděkoval své rodině za podporu při psaní bakalářské práce.

Abstrakt

Délka života souvisí do určité s řadou další fyziologických procesů, které jsou navzájem propojené. Předpokládá se, že dlouhověké druhy mají určité fyziologické adaptace, které zajišťují pomalejší stárnutí. Cílem mé práce bylo zmapovat fyziologické znaky, u kterých se předpokládá souvislost s délkou života a zjistit, jakou mají tyto předpoklady empirickou podporu. Vzhledem k tomu, že délka života úzce souvisí s velikostí těla, byly do mé práce zahrnuty i studie testující vztah zmíněných fyziologických znaků k velikosti těla. Mezi znaky, u kterých byla souvislost s délkou života navržena, a které tedy ve své práci zpracovávám, patří metabolický obrat, což je celkové množství energie na jednotku hmotnosti, kterou organismus vydá za jednotku času, odolnost k oxidačnímu stresu, délka a rychlost zkracování telomer a stresová a imunitní odpověď.

Klíčová slova: Délka života, přežívání, rozmnožování, životní strategie, pace-of-life syndromy, oxidační stres, antioxidanty, volné radikály, reaktivní formy kyslíku a dusíku, metabolický obrat, imunita.

Abstact

Lifespan is related to a number of physiological processes that are interconnected. Longevous species are assumed to have evolved certain physiological adaptations that slow down ageing rate and enable long lifespan. The aim of my thesis was to review physiological traits that has been hypothesised to be associated with lifespan, and to evaluate the empirical support for such hypotheses. Studies testing the association of these traits with body size has also been included in my thesis, as body size is known to be tightly related to lifespan. Traits that are reviewed in my thesis due to their hypothesised coevolution with lifespan are as follows: metabolic rate (i.e., a total amount of energy expended by the organism per unit of body mass and unit of time), oxidative stress resistance, telomere length and rate of telomere shortening and intensity of stress and immune responses.

Key words: Lifespan, longevity, survival, reproduction, oxidative stress, free radicals, reactive oxygen and nitrogen species, metabnolic rate, immunity, antioxidants

Seznam zkratek

BMR	basální metabolický obrat
DNA	deoxyribonukleová kyselina
FMR	metabolický obrat v terénu
HPA	osa hypotalamus- hypofýza- nadledeviny
MHC	hlavní histokompatibilní komplex
MK	mastná kyselina
MUFA	mononenasycená mastná kyselina
PI	peroxidační index
PMR	maximální metabolický obrat
POLS	syndromy životního tempa
PUFA	polynenasycená mastná kyselina
RCS	reaktivní karboxylové druhy
RNA	ribonukleová kyselina
RNS	reaktivní formy dusíku
ROS	reaktivní formy kyslíku
RS	reaktivní částice
SFA	nasycená mastná kyselina
TROC	intenzita změny délky telomer
UFA	nenasycená mastná kyselina

Obsah

1	Úvod	1
2	Životní strategie:	2
2.1	<i>r- a K-strategie:</i>	2
2.2	<i>Rychlé a pomalé životní strategie.....</i>	2
3	Stárnutí a délka života	4
4	Pace-of-life syndromy	6
5	Metabolický obrat.....	7
5.1	<i>Metabolický obrat, velikost těla a délka života</i>	8
6	Oxidační stres:	14
6.1	<i>Buněčné membrány a oxidační stres</i>	17
6.1.1	<i>Oxidační stres a stárnutí</i>	18
7	Telomery	22
7.1	<i>Studie souvislosti délky života a délky telomer.....</i>	23
8	Délka života a stresová odpověď	25
8.1	<i>Stres a stresové reakce</i>	25
8.2	<i>Stresová reakce a délka života</i>	26
9	Význam imunity:.....	27
9.1	<i>Nespecifická část imunitního systému.....</i>	27
9.2	<i>Specifická část imunitního systému</i>	28
9.3	<i>Imunitní systém, velikost těla a délka života</i>	29
10	Závěr	30
11	Seznam použité literatury	32

1 Úvod

V průběhu evoluce se u živočichů vyvíjejí různé životní strategie (*life-histories*), tedy způsoby jakým organizmy investují čas a dostupné zdroje do hlavních komponent fitness – zejména do tělesného růstu, rozmnožování a mechanismů zajišťujících přežívání. Vzhledem k tomu, že množství zdrojů, se kterými každý organizmus disponuje, je omezené, existuje *trade-off* mezi jejich investováním do jednotlivých komponent. Základním omezením uplatňujícím se v evoluci životních strategií je *trade-off* mezi investicí do rychlosti růstu a rozmnožování a do mechanismů zajišťujících přežívání. To způsobuje, že se životní strategie vyvíjejí podél jediné hlavní osy od rychlých po pomalé. Rychlé životní strategie jsou charakterizované rychlým růstem, vysokou intenzitou rozmnožování a krátkou délkou života, zatímco opačné nastavení těchto *life-history* znaků charakterizuje životní strategie pomalé. Mezi extrémními rychlými a pomalými strategiemi se nachází kontinuum přechodových strategií, kdy se obě tyto hlavní komponenty fitness uplatňují s různou intenzitou.

Narůstající počet studií naznačuje, že podobné životní strategie se vyvíjejí společně s podobnými fyziologickými, imunologickými a behaviorálními adaptacemi, což vede k výskytu souborů těchto adaptací charakteristických pro různé životní strategie – tzv. *pace-of-life* syndromů (POLS). Bylo například zjištěno, že druhy s rychlými životními strategiemi mají vysokou intenzitu metabolismu, což je pravděpodobně adaptace nutná pro rychlý růst a intenzivní rozmnožování. Energetický metabolismus je však také hlavním zdrojem volných radikálů, jež jsou pokládány za jeden z hlavních faktorů způsobujících stárnutí a intenzivní metabolismus tak může přispívat ke krátké době života těchto druhů. Obecně lze očekávat, že druhy s rychlými životními strategiemi budou mít adaptace umožňující rychlý růst a intenzivní rozmnožování, kdežto pomalé životní strategie budou spojené s evolucí adaptací zpomalujících stárnutí organismu a umožňujících dlouhou dobu dožití.

Cílem mé bakalářské práce bude na základě literární rešerše zjistit, které fyziologické a imunologické adaptace souvisejí s délkou života u endotermních obratlovců. Vzhledem k tomu, že velikost těla je jednou hlavních determinant externí mortality v důsledku predace a tím evoluce životních strategií, budou posuzovány i adaptace související s velikostí těla. Práce je omezena na endotermní obratlovce, neboť závislost tělesné teploty u ektotermů, a tím i jejich tělesné aktivity a metabolického výdeje, na teplotě prostředí by mohla komplikovat interpretaci zjištěných faktů.

2 Životní strategie:

2.1 *r*- a *K*-strategie:

Koncept *r*- a *K*-strategií rozpracovali v šedesátých letech minulého století na základě studia ostrovní biografie ekologové Robert MacArthur a Edward O. Wilson. Jeho základem je *trade-off* mezi počtem a kvalitou vyprodukovaných potomků. Modelovým *r*-stratégem by měl být organismus s vysokou produkcí potomků, jejichž kvalita a konkurenceschopnost jsou posunuty do pozadí. Většina potomků *r*-stratégů se nedožije dospělosti, především z důvodu predace, parazitismu, dostupnosti zdrojů apod. *r*-stratégové mají vysokou schopnost rychle kolonizovat nová prostředí, v nichž je nízká konkurence. U *K*-stratégů je naopak pozorován větší důraz na kvalitu potomků, kterým věnují intenzivnější péči. Do pozadí je odsunuta zejména kvantita potomstva. Tato strategie by se měla uplatňovat především v prostředí s vyššími hustotami populací, kde je vyšší konkurence o zdroje a tedy i vyšší potřeba kvalitního potomstva.

Pojmy *r*- a *K*-stratég jsou však velmi relativní. Velký vliv má například to, které druhy mezi sebou porovnáváme (například myš bude proti člověku *r*-stratégem, ale porovnáme-li ji s jepicí, bude se jevit jako *K*-stratég). Postupem času se navíc zjistilo, že významnější roli při formování životních strategií má věkově závislá mortalita, spíše než populační hustota. Na základě tohoto zjištění byl postupně vypracován dodnes uznávaný koncept rychlých a pomalých životních strategií (Stearns, 1992).

2.2 Rychlé a pomalé životní strategie

Základními znaky životních strategií jsou rychlost růstu, věk při nástupu reprodukce, intenzita reprodukce a délka života. Ústředním faktorem teorie rychlých a pomalých životních strategií (*life-history theory*; Stearns, 1992) je *trade-off* mezi intenzitou růstu a reprodukce a mírou přežívání dospělců. V důsledku tohoto *trade-off* nelze maximalizovat všechny tyto klíčové komponenty determinující fitness jedince naráz a životní strategie se proto vyvíjejí podél jediné hlavní osy (tzv. *fast-slow life-history continuum*). Na koncích tohoto kontinua jsou rychlé životní strategie (*fast life-history*) a pomalé životní strategie (*slow life-history*). Rychlé životní strategie se vyznačují malou tělesnou velikostí, rychlým

růstem a brzkým dosažením pohlavní dospělosti, vysokou intenzitou rozmnožování (velký počet mláďat ve vrhu či snůšce a velký počet vrhů/snůšek za rok), nízkou mírou přežívání dospělců a tudíž krátkou délkou života. Zástupce těchto strategií lze ve větší míře očekávat v prostředích s častými výkyvy biotických a abiotických podmínek, například v temperátních oblastech. Jedinci druhů s pomalými strategiemi naopak rostou déle a dosahují větší tělesné hmotnosti. Pohlavní dospělost u nich nastupuje později a množí se pomaleji, ale mají vyšší míru přežívání v dospělosti a dožívají se vyššího věku. Tito ve větší míře obývají stabilní, málo proměnná prostředí, například tropický deštný les, savanu, ale i oblasti za polárními kruhy. Zástupci obou strategií se ale vyskytují po celém světě v různém zastoupení. Životní strategie konkrétního druhu je selektována především mortalitou dospělců z vnějších příčin, jako jsou predace, parazitismus, zranění, klimatické výkyvy či dostupnost zdrojů. Vysoká míra externí mortality dospělců má za následek evoluci rychlých strategií. Jedinec má totiž v takových případech pouze malou šanci na to, že se dožije další reprodukce a je pro něho proto výhodnější maximalizovat investici do aktuální reprodukční události, spíše než do mechanismů umožňující vyšší délku života. Při nízké externí mortalitě dospělců je naopak výhodnější investovat do mechanismů zajišťujících přežívání a vyšší délku dožití (a tedy vyšší počet rozmnožovacích cyklů) na úkor intenzity rozmnožování. Navíc je výhodné investovat více do jednotlivých mláďat a věnovat jim větší rodičovskou péči, čímž se zvýší šance na jejich přežívání. Při nízké externí mortalitě dospělců jsou proto selektovány strategie pomalé (Stearns 1992).

Jedním z klíčových faktorů, který významně ovlivňuje evoluci životních strategií je tělesná velikost. Větší velikosti těla umožňují živočichům především lépe odolávat predaci a parazitismu, a větší druhy tak obecně podléhají nižší míře externí mortality. Vytvírají se tedy u nich spíše pomalé životní strategie. Velká tělesná velikost naopak vyžaduje více potravních zdrojů a často i větší teritorium. Velikost těla je hlavním, nikoliv však jediným parametrem určující životní strategii druhu a strategie stejně velkých druhů se mohou výrazně lišit (např. myš domácí, *Mus musculus*, a rypoš lysý, *Heterocephalus glaber*). Nelze tedy uniformně určit, že malý druh živočichů stojí na ose životních strategií vlevo a velký vpravo.

3 Stárnutí a délka života

Stárnutí neboli senescence je proces, během kterého dochází ke snižování efektivity a účinnosti fungování organismu. Během procesu stárnutí dochází ke kumulaci defektů a současně klesá schopnost tyto defekty opravovat nebo odstraňovat. Kumulace poškození a snižování funkčnosti tkání v průběhu stárnutí postupně zvyšuje pravděpodobnost úmrtí organismu v důsledku predace, snížené schopnosti konkurovat o potravu a další zdroje, parazitismu či následkem onemocnění. V případě, že se živočich všem těmto nástrahám úspěšně vyhne, způsobí kumulace poškození smrt prostřednictvím selhání některého z životně důležitých orgánů.

V současnosti převažuje názor, že stárnutí nemá jednu příčinu, ale podílí se na něm více faktorů společně. Jedním z faktorů hrající důležitou roli v procesu stárnutí jsou volné kyslíkové radikály a další vysoce reaktivní formy kyslíku, dusíku a uhlíku (RS – *reactive species*), které reagují s lipidy buněčných membrán, nukleovými kyselinami a proteiny a způsobují jejich oxidaci. Kumulace oxidačního poškození těchto biomolekul byla donedávna považována za hlavní příčinu stárnutí (Costantini et al. 2011).

Jedním z dalších faktorů, považovaných za příčinu stárnutí je zkracování a následný rozpad koncových struktur chromozomu – telomer. Telomery jsou repetitivní sekvence DNA nezbytné pro proces buněčného dělení a chrání chromozomy před poškozením či fúzí s ostatními chromozomy. Telomery se během každého buněčného dělení zkrátí, neboť k zahájení replikace DNA je zapotřebí počáteční sekvence z RNA, která nasedne na začátek replikovaného úseku DNA a je po proběhlé replikaci zničena (tzv. koncový replikační problém – *end replication problem*). Když se telomery v somatických buňkách po určitém počtu mitóz zkrátí na určitou limitní délku, buňka se přestává dělit a umírá. Předpokládá se, že zkracování telomer může být jakousi pojistkou proti propuknutí rakovinného bujení, ke kterému by mohlo dojít v důsledku kumulace mutací v DNA somatických buněk (Jimenez a Williams 2014).

V průběhu života jedince dochází totiž ke kumulaci poškození DNA, ať už v důsledku oxidace volnými radikály, tak v důsledku chyb v přepisu při buněčném dělení. V důsledku poškození DNA dochází ke zhoršenému čtení informace v ní zapsané, což může způsobovat poruchy funkce kódovaných proteinů s následnou sníženou funkčností tkání a orgánů, případně vznik nádorů.

Evoluci procesu stárnutí se snaží vysvětlit tři hlavní evoluční teorie. Teorie akumulace mutací (*mutation accumulation theory*) představuje stárnutí jako proces, jehož příčinou je akumulace škodlivých mutací v průběhu evoluce (Medawar 1952). Dle této teorie se vysokého věku se v přírodě v důsledku externích příčin mortality dožívá pouze malý počet jedinců a selekční tlak proti mutacím, které jsou škodlivé pouze ve vysokém věku, je proto velmi nízký (tzv. selekční stín). Tyto mutace tak nejsou z populace efektivně odstraňovány a působí stárnutí.

Medewarovu teorii přezkoumal roku 1957 George C. Williams. Ten došel k závěru, že pouhý selekční stín k akumulaci mutací škodlivých ve vysokém věku nestačí. Podle jeho teorie antagonistické pleiotropie (*antagonistic pleiotropy theory*) musí mít tyto alely pozitivní efekt na fitness v mládí (například zvýšenou reprodukci), aby nebyly selekcí z populace odstraněny. Tato teorie bere v úvahu tzv. pleiotropii, což je situace, kdy má gen dva či více fenotypových účinků. Zda bude konkrétní alela z populace odstraněna, závisí na relativním významu pozitivního účinku v mládí a negativního ve stáří, jejichž význam pro fitness se mění opět v závislosti na míře externí mortality.

Třetí hlavní evoluční teorií stárnutí je teorie těla na jedno použití (*disposable soma theory*; Kirkwood 1977). Ta je založena na předpokladu, že tělo má omezené množství zdrojů, které rozděluje mezi jednotlivé funkce a systémy. Existuje proto *trade-off* mezi investicí zdrojů do reprodukce a do opravných mechanismů, které zpomalují stárnutí. V případě vysoké externí mortality selektuje evoluce jedince dříve pohlavně dospělé, s velkým množstvím potomků, kteří méně investují do opravných mechanismů. V opačném případě jsou zvýhodňováni jedinci, kteří investují více do mechanismů umožňujících dlouhověkost na úkor intenzity rozmnožování.

Délka života je u mnoha druhů živočichů ve volné přírodě těžko zjištělná nebo měřitelná a jedince většiny druhů lze pouze zařadit do věkových skupin jako mláďata, subadulty, dospělé, případně velmi staré jedince. Přesné stanovení délky života vyžaduje celoživotní sledování označených jedinců od narození do smrti. Většina jedinců ve volné přírodě navíc zemře v důsledku externích příčin mortality (viz výše), což komplikuje určení maximální délky dožití u většiny druhů. Jednou z možností je studium maximální fyziologické délky života v zajetí, jež se však může být oproti situaci ve volné přírodě ovlivněna rozdílnou potravou či mírou aktivity apod. Při studiu adaptací souvisejících s různou délkou života se také využívají nepřímé indikátory, které by s délkou života měly

souviset, jako jsou například míra přežívání či rychlost vývoje mláďat. V poslední době je stále častěji využívaným přístupem srovnání tropických a temperátních ptáků, přičemž tropičtí ptáci vykazují znaky pomalých životních strategií (malé snůšky, vyšší míra přežívání ve srovnání s temperátními druhy; Réale et al. 2010).

4 Pace-of-life syndromy

S postupem času začalo být zjevné, že se životní strategie vyvíjejí společně s anatomickými, fyziologickými, imunitními a behaviorálními znaky. Předpokládá se, že pro podobné životní strategie by měly být výhodné podobné adaptace, což by se mělo projevit výskytem souborů navzájem korelovaných *life-history*, fyziologických a dalších znaků, tzv. *pace-of-life* syndromů (POLS; Ricklefs and Wikelski 2002)..

Ze všech součástí *pace-of-life* syndromů je nejstudovanějším fyziologickým znakem, souvisejícím s délkou života a velikostí těla, intenzita metabolismu neboli metabolický obrat (Jimenez 2014a). Předpokládá se, že intenzita metabolismu pozitivně koreluje s energeticky náročnými procesy jako je intenzita růstu a rozmnožování, že tedy je vyšší u rychlých životních strategií. S metabolickou aktivitou přímo souvisí produkce RS a tedy i citlivost organismu a jeho součástí k oxidačnímu stresu. U déle žijících organismů lze proto předpokládat nižší míru produkce RS a větší odolnost k oxidačnímu poškození, případně efektivnější mechanismy na opravu takto vzniklých poškození.

Dalším znakem, který je v souvislosti s životními strategiemi a POLS studován, je míra stresové reakce. Stresová reakce aktivuje funkce zajišťující přežití při stresových situacích tím, že v organismu přesměrovává energii a další zdroje k fyziologickým funkcím umožňujícím útěk či boj a nápravu narušené homeostázy. Stresové hormony také mají velice významný vliv na metabolický obrat, jehož intenzitu zvyšují. Je proto pravděpodobné, že koncentrace stresových hormonů a míra stresové reakce na stresové podněty může souviset s délkou života a životními strategiemi obecně.

K poškození organismu mimo již zmíněné přispívá i vnější vliv parazitů. Mimo behaviorální aspekty předcházení onemocněním a parazitismu hraje důležitou roli imunitní systém. U krátkověkých druhů se předpokládá méně rozvinutá specifická část imunitního systému a vyšší závislost na imunitě nespecifické (jinak též vrozené), která se uplatňuje již

při prvním setkání s patogenem. U druhů dlouhověkých se naopak předpokládá vyšší význam specifické (adaptivní) imunity, která je sice mnohem efektivnější, ale aktivuje se se zpožděním, neboť pro její plné uplatnění je nutné předchozí setkání s konkrétním patogenem. Aktivita jednotlivých částí imunitní odpovědi by tedy měla úzce souviset s životními strategiemi jednotlivých druhů (Réalé et al. 2010).

5 Metabolický obrat

Metabolický obrat je veličina, která vyjadřuje množství energie vydané organismem za jednotku času. Podílí se na průběhu biologických procesů a ovlivňuje dělení buněk a tedy i růstu organismu.

Metabolický výdej lze měřit přímo a nepřímo. Při přímém měření metabolického výdeje měříme konečný produkt (teplo). Dále se počítá rozdíl mezi energií přijatou a vydanou. K nepřímému měření metabolického výdeje lze například využít měření výměny plynů (spotřeba kyslíku a vylučování oxidu uhličitého) s okolím (aerobní metabolismus). Metabolický obrat vlivem momentálního stavu organismu a okolních podmínek kolísá a rozlišuje se proto několik typů.

Basální metabolický výdej (*basal metabolic rate* – BMR) je minimální množství energie spotřebované organismem v teplotně neutrálních podmínkách (to je v podmínkách kde organismus vynakládá minimum energie na termoregulaci), v klidovém stavu a nalačno za jednotku času. V tomto stavu nedochází k aktivnímu trávení potravy, k pohybu organismu a k termoregulaci a výdej energie je dán pouze nezbytnou funkcí hlavních orgánů, jako jsou srdce, plíce, mozek, játra, ledviny, svaly a kůže. Basální metabolický výdej lze měřit pouze u endotermních živočichů (savců a ptáků) kvůli jejich schopnosti fyziologicky udržovat stálou vnitřní teplotu. U ektotermních živočichů mluvíme o standartním metabolickém výdeji (*standard metabolic rate* – SMR).

Na rozdíl od basálního metabolického výdeje, který je ovlivňován hlavně funkcí životně důležitých orgánů, například trávicí, oběhové či nervové soustavy, je maximální metabolický výdej (*peak metabolic rate* – PMR) ovlivňován především prací skeletálního svalstva při letu, běhu při lokomoci, při třesu k výrobě tepla nebo při reprodukci. (Duchamp et al., 1993). Měření maximálního metabolismu představuje značný

technologický problém, který lze překonat testováním ptáků ve větrném tunelu (Tucker 1968) či v "letových kolech" (Chappell et al. 1999), při běhu na běžecím pásu v případě běžců (*Paleognathae*) nebo při jeho indukci chladem (Wiersma et al. 2007b).

Metabolický obrat v terénu (*field metabolic rate* – FMR) je hodnota metabolismu naměřená u zvířat ve volné přírodě (volně žijících) a asi nejlépe vypovídá o jejich reálném metabolickém výdeji během aktivního života. FMR lze v terénu měřit například metodou dvojité značené vody, která je založena na stanovení produkce oxidu uhličitého a odpadní vody s využitím aplikace vody obsahující izotop kyslíku ^{18}O a deuterium ^2H . Dá se ale měřit i alternativními způsoby, například sledováním srdeční frekvence.

5.1 Metabolický obrat, velikost těla a délka života

Metabolismus se svou intenzitou přímo podílí na funkci navzájem si konkurujících životních funkcí. V minulém století začal výzkum naznačovat souvislost mezi basálním metabolickým výdejem, velikostí těla a délkou života. Původně se předpokládala negativní korelace mezi metabolickým výdejem a délkou života, tuto hypotézu původně formuloval Max Rubner (1908) jako *rate-of-living theory*. Dále ji ve své knize rozpracoval Pearl (1928). Tato hypotéza byla založena na pozorování, že větší živočichové žijí déle než ti menší (viz též např. Hulbert et al. 2007). Teorie *rate-of-living theory* předpokládá, že množství energie na jednotku hmotnosti, kterou může každý druh vydat za život, je neměnné a rozdíl je jen v rychlosti její spotřeby. Dále teorii rozvinul Denham Harman, který navrhl konkrétní hypotetický mechanismus, kterým by intenzita metabolismu měla délku života ovlivňovat. Harman naznačoval, že volné radikály kyslíku vzniklé při aerobní respiraci propojují intenzitu metabolismu s procesem stárnutí (*free-radical theory of aging*; Harman 1956). Tehdy bylo stárnutí považováno především za akumulaci oxidačního poškození molekulárních součástí buněk. To je působeno právě oxidací volnými kyslíkovými radikály a dalších RS, které jsou nevyhnutelnými vedlejšími produkty aerobní respirace (Harman 2001; viz též kapitola 3). Harman (1956) porovnával ve své studii několik druhů živočichů a dospěl k závěru, že intenzita BMR pozitivně koreluje s produkcí ROS.

Vztah mezi metabolismem a stárnutím se postupně ukázal být složitější, než se původně zdálo. Například ptáci mají ve srovnání se savci stejné velikosti mnohem intenzivnější metabolismus. Podle hypotézy *free-radical theory of aging* by tak měli rychleji stárnout kvůli vyšší produkci kyslíkových radikálů. Přesto ale žijí déle než savci obdobné velikosti (Holmes et al., 2001). Například papoušek vlnkovaný (*Melopsittacus undulatus*) se může dožít až 20 let, zatímco myš domácí (*Mus musculus*) se dožívá maximálně 2 - 3 let. Podobné nesrovnalosti se objevují i na vnitrodruhové úrovni například u myši, u nichž se jedinci s vyšším metabolismem dožívají vyššího věku, než jedinci s metabolismem pomalejším (Speakman et al., 2004). Vysvětlením může být, že rychlost produkce volných radikálů nemusí přímo souviset s intenzitou metabolismu (Barja 1998). Tato myšlenka je v souladu s pozorováním, že létající obratlovci (netopýři a ptáci) mají jedny z nejnižších produkcí peroxidu vodíku, navzdory vysokým metabolickým výdejům. Podobný trend ukazuje i rychlost s jakou jsou produkovány molekuly peroxidu vodíku ze srdečních mitochondrií, které byli izolované ze široké škály druhů obratlovců s různou délkou života a různou velikostí těla. Hladina peroxidu negativně korelovala s délkou života druhu bez ohledu na intenzitu metabolického výdeje (Lambert et al., 2007). Tyto poznatky naznačují, že vztahu mezi metabolickým obratem a stárnutím bude oproti původním předpokladům pravděpodobně mnohem složitější (Van Voorhies et al. 2002).

Při studiu metabolického obratu je nutné rozlišovat mezi celkovým metabolickým obratem celého organismu a hmotnostně specifickým metabolickým obratem. Korelace mezi tělesnou velikostí a celkovým metabolickým obratem je v současnosti velmi dobře prokázána a tělesná velikost vysvětluje kolem 95 % variability v BMR či FMR (Hudson et al. 2013; McKeachie et al. 2003; McNab et al. 2008 a 2009; Nagy et al. 2005; White et al. 2003, 2004 a 2009). Basální metabolický výdej podle těchto studií narůstá s tělesnou hmotností s exponentem 0,67 – 0,75, což znamená, že BMR na jednotku hmotnosti s narůstající hmotností klesá. Právě tento pokles byl inspirací pro *rate-of-living* theory. Při jejím testování je proto nutné zaměřit se na vztah mezi délkou života a hmotnostně specifického metabolického obratu.

Vztah mezi intenzitou hmotnostně specifického metabolismu testoval například Hulbert et al. (2007). V jeho studii zahrnující 267 druhů savců a 108 druhů ptáků intenzita hmotnostně specifického BMR ($\text{kJkg}^{-1}\text{den}^{-1}$) signifikantně negativně korelovala s délkou života. Jinými slovy nejintenzivnější hmotnostně specifický BMR měly druhy s malou

tělesnou velikostí. Při každém zdvojení velikosti se pak hmotnostně specifický BMR snížil zhruba o 15-20 %. Tento výsledek je v souladu s *rate-of-living* hypotézou.

De Magalhaes et al. (2007) obdobně zkoumali vztah mezi BMR a délkou života napříč ptačími a savčími druhy a druhy obojživelníků. Tato studie byla pravděpodobně první, která kromě tělesné velikosti zohlednila také fylogenetické vztahy sledovaných druhů. Tato studie vztah mezi a délkou života nad rámec tělesné velikosti nezjistila.

Mnoho studií využívá k testování adaptací souvisejících s životními strategiemi srovnání tropických a temperátních druhů ptáků. Mnohá pozorování zjistila u druhů žijících v tropickém pásmu menší snůšky a vyšší přežívání jedinců ve srovnání se stejně velkými příbuznými ptáky v mírném pásu. To naznačuje, že tropičtí ptáci mají pomalé životní strategie a delší dobu života.

Srovnání 65 druhů tropických a 59 temperátních ptáků ze Severní a Střední Ameriky ukázalo nižší basální metabolický obrat u tropických druhů nezávisle na jejich hmotnosti, což by mohlo naznačovat souvislost mezi BMR a délkou života (Wiersma et al. 2007b).

Tropickým druhům ptáků se ve své studii věnovali také Londono et al. (2015). U 253 druhů ptáků Peru sledovali, zda se liší BMR druhů ze severní a jižní polokoule. Jejich výsledky potvrzují teorii pomalých POLS u tropických ptáku. Data pro dalších 64 druhů tropických ptáku ze Střední Ameriky (Panama) získali z předchozí studie Wiersma et al. (2007a). Po srovnání nedospěli k žádným rozdílům i přes to, že tyto druhy oddělovala vzdálenost téměř 2 500 kilometrů. To naznačuje, že tropičtí ptáci mají nižší intenzitu BMR nezávisle na zeměpisné šířce, na které žijí.

V jiné studii simulující let ve vysoké nadmořské výšce měli tropičtí ptáci nižší maximální metabolický výdej ve srovnání s příbuznými temperátními druhy podobné velikosti (Wiersma et al. 2007a). Hodnota maximálního metabolického výdeje byla u tropických jedinců o třicet čtyři procent menší než u temperátních druhů. Snížená hodnota maximálního výdeje metabolismu je v souladu s atributy života tropických ptáků s ohledem na jejich životní prostředí a životnost jedinců.

Jiné studie se zaměřily na FMR, který by mohl nejlépe odrážet energetické nároky druhů v průběhu jejich života. Zároveň bylo zjištěno, že FMR nekoreluje příliš silně s BMR a nezdá se být pouze násobkem BMR. FMR tedy může poskytovat o energetických nárocích druhu poměrně odlišnou informaci (Nagy et al. 2005).

Speakman (2005) se ve své studii zaměřil na vztah mezi FMR, velikostí těla a délkou života. FMR nezávisle na hmotnosti těla negativně koreloval s délkou života mezi 639 druhy savců, což by odpovídalo *rate-of-living* teorii. U ptáků (381 druhů) se však podobný vztah nezjistil, což není s touto teorií slučitelné. Fylogenetické vztahy nebyly v této studii zohledněny.

Moeller (2008) později publikoval fylogeneticky kontrolovanou studii založenou na 35 druzích ptáků. Tato studie přinesla překvapivý výsledek, když hmotnostně specifický FMR koreloval s maximální délkou života pozitivně. Tato studie je tak přímo v rozporu s *rate-of-living-theory*. S ohledem na vysoký metabolický obrat dlouhověkých druhů ptáků by měl existovat silný selekční tlak na struktury odolné k oxidačnímu stresu, který se s narůstající intenzitou metabolismu zvyšuje (Moeller 2008).

Několik studií také testovalo vztah mezi metabolickým obratem a délkou života na orgánové a buněčné úrovni. Řada studií u savců (*in vivo*) hodnotila energetickou náročnost orgánů pomocí měření arterio-venozních rozdílů koncentrace kyslíku v plazmě, současně docházelo k měření průtoku krve pozorovaným orgánem. Studie tak ukázala, že hmotnostně specifický metabolismus jaterní tkáně k relativní velikosti těla, který byl u potkanů, králíků, koček, psů a i člověka byl nižší, čím byla větší velikost těla (Wang et al., 2001). Zjištěné údaje naznačují u savců větších tělesných velikostí sníženou intenzitu energetického obratu buněk, než u savců menších velikostí.

Jimenez and Williams (2014) testovali vztah mezi velikostí těla a intenzitou bazálního metabolismu primárních dermálních fibroblastů odebraných z 39 druhů ptáků. Výsledky však žádnou korelaci neodhalily. Zjištěn však byl pozitivní vztah s rychlostí růstu, což by mohlo naznačovat negativní vztah buněčného metabolismu s délkou života. V další studii (Jimenez et al. 2014b) byl stejným týmem porovnáván bazální a maximální metabolický obrat primárních dermálních fibroblastů odebraných z 34 druhů tropických a temperátních ptáků. Studie byla založena na párových srovnáních celkem 17 párů příbuzných a podobně velkých ptačích druhů (v páru vždy jeden tropický a jeden temperátní druh). Fibroblasty tropických ptáků vykazovaly v této studii oproti temperátním druhům nižší BMR(až o 29%) a PMR (o 35%), podobně jako to bylo pozorováno v předchozí studii tohoto týmu na úrovni celých organismů (Wiersma et al. 2007b). Fibroblasty tropických druhů dále měly nižší mitochondriální respiraci. Dalším důkazem na podporu *oxidative-stress hypothesis of ageing* byl nižší únik protonů u tropických druhů.

Tento fakt souvisí také s nižší produkcí ROS, a tudíž podporuje domněnku, že tropické druhy stárnou pomaleji než jejich temperátní příbuzní. Sledované buňky se velikostně nelišili a tak neovlivňovala jejich velikost výsledky studie.

Výsledky studií testujících vztah mezi metabolickým výdejem a délkou života jsou velmi rozporuplné. Zdá se, že negativní vztah mezi délkou života a intenzitou hmotnostně specifického metabolického obratu (viz např. Hulbert et al. 2007), by mohl být artefakt použití hodnoty metabolického obratu a vypočtené jako podíl celkového metabolického obratu a tělesné hmotnosti. Tento výpočet nezohledňuje geometrické škálování metabolického obratu na tělesné velikosti, jehož exponent se pohybuje kolem 0,67 a 0,75 a výsledná hodnota není tedy na velikosti těla nezávislá. Při statistické kontrole na tělesnou velikost přímo ve statistickém modelu byl většinou vztah mezi délkou života a metabolickým obratem nesignifikantní (de Magalhaes et al. 2007), či dokonce pozitivní (Moeller 2008). Negativní korelaci mezi metabolickým obratem a délkou života naopak nepřímo podporují studie, srovnávající tropické ptáky s obecně vysokou mírou přežívání a ptáky mírného pásu, u kterých je míra přežívání relativně nižší (Wiersma et al. 2007a, b; Jimenez et al. 2014b). Nelze však vyloučit, že nižší intenzita metabolismu u tropických ptáků nesouvisí s delší délkou života, ale s určitými specifikami života v tropických oblastech, například se stíženým ochlazováním.

Tabulka 1; *Studie vztahu metabolického obrat a délky života*

Metabolický obrat a délka života:				
Druhy	Typ studie	Vztah	Výsledek	Zdroj
napříč taxony živočichů	komparační studie	metabolický výdej a délka života	inverzní vztah	Pearl 1928
267 druhů savců	komparační studie	BMR, velikost těla a délka života	pozitivní korelace velikosti těla a délky života, negativní korelace mezi BMR a velikostí	Hulbert et al. 2007
ptáci a savci	fylogeneticky kontrolovaná komparační studie	metabolický výdej a délka života, ptáci vs stejně velcí savci	nižší intenzita stárnutí u ptáků	Holmes et al. 2001
639 druhů ptáků a 381 druhů savců	fylogeneticky kontrolovaná komparační studie	FMR, velikost těla a délka života	u savců délka života korelována s velikostí, ptáci - variabilní vztahy, spíše nezávislé.	Speakman et al. 2005
napříč taxony ptáků, savců a obojživelníků	fylogeneticky kontrolovaná komparační studie	vztah BMR/FMR a délkou života	negativní korelace s BMR a pozitivní s FMR	Nagy et al. 2005
1456 druhů (napříč taxony savců, ptáků, obojživelníků, plazů)	fylogeneticky kontrolovaná komparační studie	BMR, délka života	žádná korelace	de Magalhaes et al. 2007
35 druhů ptáků	fylogeneticky kontrolovaná komparační studie	FMR, délka života	pozitivní korelace	Moller 2008
65 tropických a 59 temperátních druhů ptáků	fylogeneticky kontrolovaná komparační studie	BMR, tropičtí vs. temperátní	nižší u tropických	Wiersma et al. 2007a
256 druhů ptáků	fylogeneticky kontrolovaná komparační studie	rozdílné BMR tropických ptáků Severní a jižní polokoule	bez rozdílu BMR	Londono et al. 2015
19 tropických a 21 temperátních druhů ptáků	fylogeneticky kontrolovaná komparační studie	PMR, tropičtí vs. temperátní	nižší u tropických	Wiersma et al. 2007b
primární dermální fibroblasty napříč druhy ptáků	fylogeneticky kontrolovaná komparační studie	úník protonů a basální a maximální buněčný metabolický obrat	nižší u tropických ptáků	Jimenez et al. 2014c
savci	fylogeneticky kontrolovaná komparační studie	hmotnostně specifický metabolismus jaterní tkáně a velikost těla	negativní korelace	Wang et al. 2001
Savci	fylogeneticky kontrolovaná komparační studie	velikost těla a buněčný metabolismus	negativní korelace	Rose 1991

Tabulka 2; *Vnitro druhové studie vztahu metabolického obratu a délky života*

Metabolický obrat a délka života:			
Druhy	Vztah	Výsledek	Zdroj
potkan (<i>Rattus norvegicus</i>)	metabolický výdej a délka života	neprůkazné výsledky	Smith a Holloszy 1986
potkan (<i>Rattus norvegicus</i>)	metabolismus jednotlivých tkání	nejvyšší hnědá tuková tkáň	Selman et al. 2005
myš domácí (<i>Mus musculus</i>)	metabolický výdej a délka života	pozitivní korelace	Speakman et al. 2004

BMR - basální metabolický obrat; FMR - metabolický obrat v terénu; PMR - maximální metabolický obrat

6 Oxidační stres:

Vzrůstající stav kyslíku v zemské atmosféře představoval významný selekční tlak na živé organismy a výrazně ovlivnil tempo evolučních změn ve strukturách a funkcích jejich systémů. Hlavní hnací silou tohoto tlaku bylo využití kyslíku pro efektivní produkci energie. Následkem využití kyslíku v reakcích buněčné energetiky byla právě produkce reaktivních druhů (anglicky *reactive species*; Pamplona a Constantini 2011).

Redoxní reakce, spojené s využitím kyslíku jsou zodpovědné za produkci reaktivních druhů kyslíku (anglicky *reactive oxygen species* - *ROS*) a dále reaktivních karboxylových druhů (anglicky *reactive carboxyl species* - *RCS*), které poškozují především buněčné membrány a zásadním způsobem modifikují buněčné součásti chemickou oxidací dále do buňky. Třetí skupinou radikálů jsou reaktivní druhy dusíku (anglicky *reactive nitrogen species* – *RNS*; Halliwell et al. 2007).

Většina volných radikálů vzniká v mitochondriích jako vedlejší produkty aerobní respirace a reagují s mitochondriálními mastnými kyselinami za vzniku zmíněných RCS. Tyto molekuly (*ROS*, *RCS* a *RNS* vzniklé z oxidovaných proteinů) jak již bylo řečeno šíří oxidační poškození dále do buňky, která by byla v případě absence antioxidační obrany takto zničena, hromaděním obdobných poškození organismu výrazně chátrá, stárne. Intenzita produkce RS je dávana do souvislosti s metabolickým obratem (Harman 1956).

Mezi molekuly nejvíce ohrožené oxidací patří báze guanin a aminokyselina methionin. Guanin je báze mitochondriální DNA s nejnižší odolností k oxidačnímu

poškození (Bjelland et al. 2003). Methioninové zbytky z proteinů jsou nejsnáze oxidovatelné (Aledo et al. 2011). Dalo by se předpokládat, že právě tyto molekuly budou mít u dlouhověkých živočichů menší zastoupení.

Dále také volné radikály přispívají vzniku negativních mutací, což by mohlo dále zkracovat délku života, současně hrozí vznik rakovinných bujení. Zvýšená kumulace oxidačního poškození v některém z orgánů může také vést k jeho snížené funkci až selhání a dále k smrti jedince (Vágási et al. 2016).

Aerobní způsob života tak vyžadoval vznik antioxidačních systémů, antioxidačních molekulárních či strukturálních mechanismů, známé jako antioxidační obrana.

Prvním antioxidačním obranným systémem je předcházení samotné produkci reaktivních druhů kyslíku a jejich dalších derivátů.

U živočichů vyžadujících intenzivní metabolismus se do prevence vzniku oxidačního poškození zapojují tzv. mitochondriální odpřahující proteiny (*uncoupling proteins*). Tyto proteiny snižují protonový gradient vznikající čerpáním protonů z mitochondriální matrix do mezimembránového prostoru mitochondrie. Energie takto uniká je odpřažena od tvorby ATP, ale vytváří teplo. Předpokládá se, že tyto proteiny dokáží snižovat produkci RS (Echtay et al. 2003).

Eliminace již vzniklých reaktivních druhů kyslíku je především prací enzymů a nízkomolekulárních antioxidantů, mezi které patří například vitamín C, E a A, koenzym Q, karotenoidy, thioly (např. glutathion) a disulfidy, kyselina močová a bilirubin (Štípek et al. 2000). Jedním z nejběžnějších neenzymatických antioxidantů v buňkách je vitamín C (askorbát). Ačkoliv je u velkého množství druhů obratlovců získáván v potravě, je u většiny druhů též syntetizován endogenně a je tak udržována jeho vysoká hladina (Barja 1996). Askorbát se při reakci ROS přeměňuje na oxidované formy, které mohou být zpětně redukovány (Rose 1993). Druhým velice významným intracelulárním neenzymatickým antioxidantem je glutathion, což je tripeptid. Velice významný je v erytrocytech, kde napomáhá odolnosti membrány. Glutathion funguje také jako substrát pro enzym glutathion peroxidázu, který rozkládá peroxid vodíku na vodu (Matouš et al. 2010).

Antioxidační obrana je více účinná ve vodném prostředí než v prostředí lipidů, což naznačuje prioritu evoluce antioxidantů rozpustných ve vodě. Antioxidanty rozpustné v lipidech jsou většinou získávány z potravy, jako například tokoferoly a karotenoidy (Debier a Larondelle 2005).

Zvýšený oxidativní stres má přímo za následek aktivaci antioxidačních enzymů jako jsou superoxid dismutáza, glutathion peroxidáza a kataláza. Superoxid dismutáza eliminuje superoxidové radikály a převádí je na kyslík (O_2) a peroxid vodíku (H_2O_2), který je podstatně méně reaktivní než superoxid (Okado-Matsumoto et al. 2001). Peroxid vodíku je dále odbouráván glutathion peroxidázou a katalázou. Kataláza rozkládá peroxid vodíku velmi dobře, má k němu ale nízkou afinitu a tak je účinnější až při vysokých koncentracích H_2O_2 , zatímco glutathion peroxidáza je nejúčinnější při nízkých koncentracích (Goth et al. 2000).

Další možností, jak se může buňka oxidačnímu stresu bránit, je tvorba buněčných struktur, které jsou k oxidačnímu poškození odolné. Velký význam by měli mít mononenasyčené mastné kyseliny, u kterých se předpokládá vyšší odolnost k oxidativnímu poškození a současně se očekává jejich přítomnost v buněčných membránách déle žijících živočichů.

Živočichové si vyvinuli během existence též mechanismy opravující již vzniklá oxidační poškození. Na obnově poškozených buněčných součástí se podílejí například enzymy schopné obnovit oxidované membránové mastné kyseliny (například methionin sulfoxid reduktáza), dále systémy odstraňující zoxidované proteiny (proteasomy), enzymy opravující DNA, detoxifikační molekuly odstraňující karboxylové sloučeniny a další (Costantini et al. 2011).

Druhou velmi důležitou součástí obnovy je takzvaná signalizace teplotního šoku. Tato reakční cesta aktivuje expresi proteinů tepelného šoku (*heat shock proteins*) a chaperonů, které opravují trojrozměrnou strukturu buněčných proteinů poškozených oxidací (Cotto et al. 1999; Feder et al. 1999).

Vzniku RS během buněčného dýchání nikdy nelze úplně předejít, tyto zmíněné mechanismy mohou ale činnost a následky produkce RS tlumit a udržují v těle redoxní rovnováhu (vychýlení této rovnováhy je oxidační stres a vede k oxidačnímu poškození; Costantini et al. 2011).

Některé druhy RS produkovaných buňkou nemusí mít nutně škodlivé účinky, některé imunitní fagocyty buňky využívají oxidačního vzplanutí (tedy produkce RS) k zabíjení patogenů (Hořejší, Bartůňková 2009)

6.1 Buněčné membrány a oxidační stres

Buněčné membrány jsou dynamické struktury, skládající se z dvojvrstvy amfipatických (obsahující hydrofobní a hydrofilní část) fosfolipidových molekul. Převládajícími fosfolipidy v eukaryotických buňkách jsou glycerolfosfolipidy, které jsou tvořeny hydrofóbním glycerolovým hlavním řetězcem s navázanými mastnými kyselinami a hydrofilní hlavičkou sestávající z fosforečné kyseliny (Alberts et al. 2001).

Eukaryotické buňky investují do syntézy lipidů (které jsou mimo jiné i součástí jejich membrán) velmi mnoho zdrojů, okolo pěti procent jejich genů nějakým způsobem souvisí se syntézou všech těchto lipidů. Membránové mastné kyseliny lze rozdělit podle obsahu dvojných vazeb na nasycené (SFA, *saturated fatty acids*; neobsahují dvojně vazby), mononenasycené (MUFA, *monounsaturated fatty acids*; mají jen jednu dvojnou vazbu) nebo polynenasycené (PUFA, *polyunsaturated fatty acids*; mají dvě a více nenasycených dvojných vazeb) uhlovodíkové řetězce obvykle dosahující délek od 14 do 22 uhlíků (Wallis et al. 2002). U obratlovců je v buněčných membránách přísně dodržovaná délka řetězce lipidů okolo 18 uhlíků a distribuce mezi SFA a UFA (nenasycené mastné kyseliny, tzn. MUFA a PUFA) je v poměru 2:3 (Pamplona 2008).

Náchylnost k oxidačnímu poškození je především určena fyzikálně-chemickými vlastnostmi té které lipidové dvojvrstvy a chemické reaktivity mastných kyselin jí tvořící. Reaktivní druhy kyslíku jsou více rozpustné ve fluidní lipidové dvojvrstvě než ve vodném roztoku. První membránou, která je ohrožená RS je právě mitochondriální, neboť v mitochondrii tyto molekuly vznikají.

Dalším důležitým faktorem je, že dvojně vazby v nenasycených mastných kyselinách jsou extrémně citlivé na oxidaci. Citlivost lipidových membrán k oxidačnímu poškození se zvyšuje exponenciálně, v závislosti na počtu molekul nenasycených mastných kyselin a obsahu dvojných vazeb. Postranní řetězce PUFA jsou mnohem snáze napadnutelné radikály než například SFA nebo MUFA (které mají jen jednu dvojnou vazbu). Pro tuto vlastnost byl zaveden tzv. peroxidační index, který udává relativní náchylnost membrán k peroxidačnímu poškození. Se vzrůstající hodnotou peroxidačního indexu se citlivost membrán k lipoperoxidaci zvyšuje (Hulbert et al. 2007; Pamplona et al. 2002).

Membránová fluidita je ovlivněna složením mastných kyselin, které ji tvoří. Na fluiditu má zásadní vliv počet dvojných vazeb, se zavedením první a druhé dvojně vazby (s druhou už méně) fluidita roste, další dvojně vazby mají na tekutost membrán podstatně menší vliv. Dvojná vazba má na zvýšení tekutosti membrány větší vliv tehdy, je-li uprostřed řetězce, než když je blíže k jejímu konci. Citlivost k lipidové peroxidaci naopak vzrůstá bez ohledu na umístění dvojně vazby. V momentě přechodu mastné kyseliny, která obsahuje čtyři až šest dvojných vazeb do stavu obsahujících jen dvě až čtyři dvojně vazby, se sníží citlivost k peroxidaci a její fluidita je zachována. Tato hypotéza (*homeoviscous-longevity-adaptation-theory*) připomíná aklimatizaci membrány u poikilotermů a bakterií. Zobrazuje membrány jako strukturně adaptivní a dynamické systémy (Pamplona et al. 2002).

Peroxidací lipidů vznikají hydroperoxydy a endoperoxidy, které mohou být dále fragmentovány na řadu meziproduktů, které jsou vysoce reaktivní (nejreaktivnější jsou alfa-nenasycené aldehydy, dialdehydy a ketoaldehydy). Aldehydové produkty lipidové peroxidace PUFA jsou v biologických systémech všudypřítomné a mají jedinečné vlastnosti v kontrastu s jinými reaktivními druhy. Ve srovnání s časnými ROS vznikajícími v elektronovém transportním řetězci (především superoxid) mají tyto reaktivní aldehydy mnohem větší poločas rozpadu a mohou tak v buňce „škodit“ mnohem déle (minuty až hodiny). Navíc jejich nenabitá struktura jim umožňuje migrovat přes buněčné membrány a tak mohou působit na velké vzdálenosti od místa jejich vzniku a šířit oxidační stres dále do buňky. Tyto sloučeniny mají také důležitou signální roli, jejich přítomnost vede aktivaci antioxidační obrany, která následně oxidační stres snižuje.

6.1.1 Oxidační stres a stárnutí

Hulbertova et al. (2007) ve své studii studovali vztah mezi odolností membrán mitochondrií jaterních a svalových buněk a délkou života. V této studii byl pozorován silný negativní vztah mezi hodnotou peroxidačního indexu a délkou života. V případě mitochondrie jaterní buňky znamenalo snížení PI o 24 % zdvojnásobení délky života, v případě mitochondrie skeletálního svalstva se délka života prodloužila dvakrát při PI sníženém o 19 %. Studie byla kontrolována na vliv tělesné hmotnosti a její výsledky podporují hypotézu, že odolnost buněčných membrán (především mitochondriálních) k peroxidaci souvisí s délkou života.

Roku 2015 provedli Galvan et al. (2015) fylogeneticky kontrolovanou studii na volně žijících ptácích za účelem dále testovat vztah mezi maximální délkou života a složením mastných kyselin v buněčných membránách. Na vzorku 107 druhů ptáků pozoroval, že délka života je nezávisle na tělesné velikosti a fylogenezi pozitivně korelována s relativním množstvím MUFA a překvapivě i s množstvím dvojných vazeb a indexem peroxidace. Poměr všech PUFA ve studii koreloval s délkou života negativně. Dále byla pozorována pozitivní korelace mezi délkou života a délkou řetězce mastných kyselin v membránách napříč sledovanými druhy. Tyto výsledky naznačují, že maximální délka života stoupá především s délkou řetězce mastné kyseliny nezávisle na stupni nasycenosti. Maximální délka života také stoupá s vyšším podílem MUFA s dlouhým řetězcem (například kyselina adrenová), ale nasycené mastné kyseliny se středně dlouhým řetězcem jako je například kyselina myristová koreluje s délkou života negativně.

Nedávno byl ve studii Jové et al. (2013) analyzován profil lipidů krevní plazmy u 11 druhů savců (délka života mezi 3,5 a 120 lety). Za použití necílného přístupu bylo zjištěno 14 tisíc druhů lipidů. Pomocí multivariačních analýz byly druhy rozděleny do 11 skupin, tato skutečnost naznačila specifický podpis pro každý druh, díky kterému bylo možno přesně odhadnout délku života daného druhu. Pomocí regresních analýz mezi pozorovanými druhy se podařilo prokázat, že koncentrace volných mastných kyselin, peroxidace lipidů s dlouhým koncem a PI spolu korelují. S větší délkou života je hladina volných mastných kyselin s dlouhým řetězcem v plazmě nižší, což naznačuje, že tato charakteristika je rys optimalizovaný pro délku života zvířete. S délkou života je také negativně korelován index peroxidace, u dlouhověkých živočichů je tak celkově nižší než u krátkověkých.

Jak již bylo řečeno v úvodu kapitoly, dvěma molekulami nejvíce ohroženými oxidací jsou báze DNA guanin a aminokyselina metionin. Při studiu aminokyselinových složek buněčných proteinů napříč tkáněmi (u savců a ptáků) byl metionin zastoupeny nejméně. Jinými slovy množství těchto molekul v bunce negativně koreluje s délkou života daného druhu (Pamplona et al. 2005).

Ve studii Samuels et al. (2005) byly analyzovány sekvence mtDNA u 94 živočišných druhů (zahrnuje bezobratlé, ptáky a savce). U krátkověkých druhů bylo ve srovnání s dlouhověkými pozorováno větší zastoupení adeninu a thyminu a nižší zastoupení cytosinu, který tvoří pár s guaninem. Guanin byl ale ve všech případech

zastoupen velmi málo. Tyto výsledky naznačují silný selekční tlak na snížení množství guaninu a tedy k možnému zvýšení odolnosti DNA k oxidačnímu poškození (Samuel et al. 2005).

Nedávná studie Jobsona (et al., 2010), která přistoupila k fylogenetické identifikaci směru přirozeného výběru dlouhověkostí savců, předpokládá, že v případě dlouhověkých druhů jsou geny zabírající větší stupeň stárnutí nejspíš vystaveny většímu selekčnímu tlaku, než je tomu u krátkověkých. Výsledky, které vznikly porovnáním nesynonymního a synonymního vývoje 5,7 miliónu kodonových míst u dvaceti pěti druhů dokazují, že geny podílející se na biosyntéze mastných kyselin (jako jsou elongázy, desaturázy a lipoxidační opravy) a geny podílející se na složení extracelulárního kolagenu kolektivně podstoupili u déle žijících druhů zvýšený selekční tlak pro větší odolnost k oxidaci a tedy stárnutí, zatímco geny zapojené do replikace a opravy DNA nebo geny pro antioxidanty nikoliv. Je ale nutné provést další výzkum pro potvrzení úlohy metabolických drah při stárnutí a dlouhověkosti.

Nedávná studie zkoumající antioxidační obranu volně žijících ptáků ukazuje, že hladina vitamínu E není spojena s žádnou z komponent fitness (např. délkou života, velikostí těla, výživou atd.; Cohen et al. 2008). Současně autoři navrhli hypotézu podle, které by za tím mohl být systém recyklace vitamínu E. Je také možné, že hladiny vitamínu E neposkytují významné informace.

Karotenoidy jsou spolu s vitamínem E velmi dobře rozpustné v tucích a mohou se podílet na antioxidační obraně. Karotenoidy ve výše zmíněné komparační studii na ptácích korelovaly negativně s velikostí těla (Cohen et al. 2008). Podobně celková antioxidační kapacita plasmy korelovala s velikostí těla negativně, s největší pravděpodobností prostřednictvím kyselině močové, po jejímž odfiltrování korelace vymizela. Z toho vyplývá, že s velikostí těla negativně koreluje hladina kyseliny močové v plasmě.

Závěrem můžeme říci, že evoluce délky života vyvíjí pravděpodobně největší selekční tlak na odolnost buněčných struktur k oxidačnímu poškození. Dostupné studie naznačují, že toto by mohla být jedna z hlavních adaptací pro délku života, která zajišťuje nízký oxidační stres u dlouhověkých organismů, neboť koncentrace antioxidantů s délkou života korelovaly spíše negativně, případně vůbec a nebyla pozorována ani selekce na vyšší aktivitu opravných mechanismů.

Tabulka 3; *Studie vztahu oxidace a délky života*

Oxidace a délka života:				
Druhy	Typ studie	Vztah	Výsledek	Zdroj
obratlovci	fylogeneticky kontrolovaná komparační studie	efektivita vitaminů C a E a karotenoidů při oxidační obraně	žádná korelace, možná tkáňově specifický efekt	Constantini a Moeller 2008
napříč taxony obratlovců	komparační studie	peroxidační index a délka života	silná negativní korelace	Hulbert et al. 2007
napříč taxony ptáků a savců	fylogeneticky kontrolovaná komparační studie	hladiny nenasycených mastných kyselin a peroxidační index	pozitivní korelace	Pamplona a Barja et al. 2011
107 druhů ptáků	fylogeneticky kontrolovaná komparační studie	délka řetězce mastných kyselin a délka života	pozitivní korelace	Galvan et al. 2015
ptáci	fylogeneticky kontrolovaná komparační studie	hladina antioxidantů a oxidativní poškození	negativní korelace	Cohen et al. 2008
savci	fylogeneticky kontrolovaná komparační studie	genetická obrana aminokyselin a délka života	pozitivní korelace	Jobson et al. 2010
létající a apterní obratlovci	fylogeneticky kontrolovaná komparační studie	metabolický výdej a produkce peroxidů	negativní korelace	Lambert et al. 2007
lejsek černošedý (<i>ficedula hypoleuca</i>)	vnitrodruhová analýza	intenzita oxidačního stresu na přítomnost predátora	pozitivní korelace	Thomson 2010
myš domácí (<i>mus musculus</i>)	vnitrodruhová analýza	PI fosfolipidů buněčných membrán a délka života	pozitivní korelace	Miller et al. 2002; Hulbert et al. 2006
potkan a holub	fylogeneticky kontrolovaná komparační studie	peroxidační index jaterních buněk a délka života	negativní korelace	Vleck et al. 2003

7 Telomery

Telomery jsou opakující se sekvence nukleotidů na konci chromozomů eukaryotických buněk (Blackburn, 2000). Telomery se s každým buněčným dělením zkracují v důsledku koncového replikačního problému (Harley et al., 1990). Kromě jejich zkracování během každého buněčného dělení v důsledku koncového replikačního problému, se zkracování telomer může současně urychlovat vlivem oxidačního poškození (von Zglinicki, 2002). V momentě kdy je telomera příliš krátká, buňka podstoupí místo buněčného dělení apoptózu (to znamená proces programované buněčné smrti). Indukce apoptózy má výhodu v případě eliminací nebezpečných buněk rakovinného dělení (Campisi et al., 2001). Nevýhodou ovšem je riziko přispění ke zkrácení délky života, anebo snížení úspěšnosti reprodukce. Přítomnost buněk s velmi krátkými telomerami může přispět k rychlosti stárnutí jeho lokálním zrychlením (Campisi et al., 2001), následkem je například snížená vaskularizace a snižuje se energetická stabilita orgánu a následně se zvyšuje pravděpodobnost smrti. Kratší telomery či jejich rychlejší zkracování by měli indikovat větší pravděpodobnost smrti jedince.

Telomery a jejich délka má přímo vliv na fyziologické schopnosti a celkové zdraví organismu (Sharpless a DePinho, 2004). S procesem zkracování telomer jsou propojené také základní komponenty fitness růst, reprodukce a přežívání.

V případě telomer se nejčastěji stanovují dva základní parametry – délku telomer a rychlost jejich zkracování. Z dosavadních studií se zdá, že absolutní délka telomer není příliš dobrým prediktorem následného přežívání a kondice jedince. Mnohem lepším ukazatelem biologického stárnutí se zdá být rychlost zkracování telomer (*telomere rate of change* – TROC; například, Heidinger et al. 2012). Rychlost zkracování telomer může být založená buď na odhadech průřezových (to znamená srovnání mezi různě starými jedinci v rámci populace) anebo longitudinálních (tedy v rámci jednotlivce v různých časových intervalech). Studování živočichové se zkrácenými telomerami mohou z výzkumu zmizet v pokročilejším věku, proto mají vyšší vypovídací hodnotu data longitudinální (Vaupel et al., 1979).

7.1 Studie souvislosti délky života a délky telomer

Dostupnost údajů intenzity změn telomer je napříč taxony omezená. Dostupnost dat o rychlosti zkracování telomer je napříč pěti třídami zastoupeno nerovnoměrně, 63% (většina odhadů) pochází od ptáků (*Aves*), 17 % od savců (*Mammalia*), ≤ 10 % odhadů (*Actinopterygii* = 3 %, *Bivalvia* = 7 %, *Reptilia* = 10 %; Dantzer a Fletcher 2015). Velmi malé množství dat je u krátkověkých druhů, studie se na ně celkem málo zaměřují.

Většina studií se shoduje na souvislosti mezi rychlostí zkracování telomer a intenzitou stárnutí organismu. Studie Hausmann et al. (2003) prokázala druhově specifickou rychlost zkracování telomer u savců a ptáků. Podle Hausmanna je zkracování telomer nejlepším mezidruhovým prediktorem stárnutí, tedy že rychlost zkracování telomer pozitivně koreluje s rychlostí stárnutí.

V případě mezidruhových srovnání ptáku (Pauliny et al. 2006), konkrétně u břehule říční (*Riparia riparia*, zástupce krátkověkých altriciálních) a jespáka obecného (*Calidris alpina*, zástupce dlouhověkých prekociálních) se vztah délky telomer s věkem byl v případě jespáků dobře vidět, u jedinců mladších než tři roky se telomery zkrátily v průměru o 173 páru bází za rok, s vyšším věkem se toto zkracování snížilo na průměrnou délku 76 párů bází za rok. U břehulí nebylo dobře pozorovatelná délka zkracování, také ale platí, že v případě mláďat se telomery zkracovali podstatně rychleji než poté u dospělých zvířat, kde již byli změny málo patrné. V porovnání obou druhů se u břehulí (krátkověkých druhů) telomery zkracovaly rychleji už od věku jednoho roku (to je od věku první reprodukce) až do jejich smrti (mezi 4. a 5. rokem života). U jespáků (dlouhověkých zástupců) se telomery zkracovaly až od druhého roku života.

Další výzkum, který zkoumal, jak délka telomer souvisí s délkou života, provedli Dantzer a Fletcher 2015. Výzkum byl prezentován na divokých zvířatech a cílem bylo opět testovat, že telomery se zkracují u dlouhověkých druhů pomaleji než u krátkověkých. Analýza Dantzera a Fletchera potvrdila předchozí výsledky. U 14 druhů ptáků dospěli k výsledkům vykazujícím stejný trend. Tato srovnávací analýza již byla na rozdíl od předchozích kontrolována na fylogenetickou příbuznost a vztahovala se k intenzitě zkracování telomer a maximální délce života.

V případě zebříček (Heidinger et al. 2012) byla pozorována větší délka života u jedinců jejichž telomery byli do věku 25 dní od vylíhnutí delší. Podobně jako v případě

Pauliny et al. 2006 tyto výsledky naznačují, že maximální délka života souvisí s délkou telomer na začátku života a během jeho dospívání. Dále pozorovali u hnízdících jedinců kratší délku telomer než u těch, kterým bylo v hnízdění zabráněno, což může naznačovat, že druhy s intenzivnějším rozmnožováním během jedné sezóny (druhy s rychlými životními strategiemi) stárnou rychleji než pomalu se rozmnožující jedinci s pomalou životní strategií.

V případě krátkověkých druhů ptáků (například *Cyanistes caeruleus*; Sudyka et al. 2016) se telomery meziročně zkracují více (u *Cyanistes* o 12,4 % délky telomery za rok) než u dlouhověkých druhů kde se změna délky telomery pohyboval mezi +1,5 a -5,5 % za rok.

Z dostupných studií můžeme odvodit důležitost vztahu mezi rychlostí zkracování telomer a délkou života. Tato rychlost je druhově specifická a může tak představovat jednu z adaptací souvisejících s délkou života a rychlostí stárnutí. Dostupné studie však zahrnovaly pouze malý počet druhů a je zapotřebí dalšího testování tohoto vztahu.

Tabulka 4; Studie vztahu zkracování telomer a délky života

Telomery a délka života:				
Druhy	Typ studie	Vztah	Výsledek	Zdroj
5 druhů ptáků a 5 druhů savců	fylogeneticky kontrolovaná komparační studie	Intenzita zkracování telomer a délka života	negativní korelace	Vleck et al. 2003
14 druhů ptáků	fylogeneticky kontrolovaná komparační studie	Intenzita zkracování telomer a délka života	negativní korelace	Dantzer a Fletcher 2015
ptáci	analýza publikovaných dat	Intenzita zkracování telomer a délka života	negativní korelace	Sudyka et al. 2016
Zebříčka pestrá (<i>Taeniopygia guttata</i>)	Vnitrodruhová analýza	Intenzita zkracování telomer a délka života	negativní korelace	Heidinger et al. 2012
<i>Riparia Riparia</i> a <i>Calidris alpina</i> (břehule a jespák)	Dlouhodobá intra-specifická studie	Intenzita zkracování telomer a stáří	negativní korelace	Pauliny et al. 2006

8 Délka života a stresová odpověď

8.1 Stres a stresové reakce

Stresová reakce má pozitivní vliv na organismus během vystavení stresoru. Stresory jsou faktory, které ohrožují život a homeostázu organismu. Mohou mít abiotický, potravní, sociální, antropogenní či vnitřní původ (a mnoho dalších). Mezi stresory patří také energeticky náročné procesy, jako je například reprodukce a aktivace imunity v průběhu infekčních a parazitárních onemocnění. V reakci na stresové situace exprimuje organismus několik stresových hormonů, které zajišťují redistribuci energie a dalších zdrojů v organismu směrem k fyziologickým funkcím zajišťujícím přežití a udržení homeostázy. Naopak funkce, jež nejsou pro přežití nezbytné (např. reprodukční funkce, trávení potravy apod.) jsou při stresu utlumeny.

Při nástupu stresového podnětu dochází nejprve ke stimulaci sympatické části vegetativního nervstva (zvyšuje jeho aktivaci na úkor parasympatiku). Zvýšením aktivity sympatiku (které není ovládáno vůlí) zvyšuje momentální výkon například při setkání s predátorem (nutnost útěku).

Následně dojde k vylití hormonů katecholaminů (epinefrin a norepinefrin; jinak též adrenalin a noradrenalin), jejichž funkcí je, spolu se sympatikem, krátkodobé zvýšení výkonu organismu, které zahrnuje vyšší krevní tlak a vyšší tepovou frekvenci (Morrison a Cao 2000).

S určitým zpožděním (v řádu minut) se aktivuje osa hypotalamus – hypofýza – nadledviny (*hypothalamic–pituitary–adrenal axis*; HPA), jejíž účinek je pomalejší a dlouhodobější. V odezvě na stres se v hypotalamu vylučuje kortikoliberin, který následně stimuluje adenohypofýzu k vylučování adrenokortikotropního hormonu (ACTH). Tento hormon dále stimuluje kůru nadledvin k expresi dalších hormonů, tzv. glukokortikoidů. Hlavním glukokortikoidem u většiny savců je kortizol, zatímco u ptáků a hlodavců je hlavním stresovým hormonem kortikosteron. Glukokortikoidy umožňují přednostně využít tuky a proteiny jako zdroje energie, v játrech zvyšují syntézu glykogenu a glukózy pro další využití v energetice, ve svazech naopak pomáhají rozkládat složité makromolekuly za vzniku energie. Tato energie je při vystavení stresoru využívána na jeho kompenzaci, například tvorba tepla při chladu nebo energie pro svaly při útěku nebo souboji.

Glukokortikoidy také snižují množství některých buněk imunitního systému v krvi (například lymfocytů, monocytů, eozinofilů a dalších), naproti tomu zvyšuje množství červených krvinek, což je nejspíš způsobeno zvýšenou potřebou kyslíku pro tělesnou energetiku (pro svaly a lokomoci, srdce, atd; Lincová et al. 2007)

Stresové hormony kontrolují průběh stresové reakce a napomáhají k správné fyziologické funkci organismu v situacích zvýšeného napětí a snižují rizika poškození tkání vnitřních orgánů.

8.2 Stresová reakce a délka života

Studie Hau et al. (2010) sledovali vztah mezi hladinami steroidních hormonů u tropických a temperátních pěvců během hnízdní sezony, věk jedinců nebyl znám, jen míra jejich přežívání. Dospěli k závěru, že stresové hladiny kortikosteronu, negativně korelují s tělesnou velikostí. To může souviset s nižší metabolickou aktivitou velkých druhů ve srovnání s malými (např. White et al. 2003; Hulbert et al. 2007; McNab 2009). Klidové hladiny naopak žádnou korelaci s velikostí nevykazovaly. Po odfiltrování vlivu tělesné velikosti měly druhy s vyšší mírou přežívání jedinců vyšší stresové hladiny kortikosteronu, který napomáhá po stresové reakci reaktivovat zdroje a zásoby energie a napomáhá navrácení původního stavu homeostaze. Tropické druhy měly naopak nižší klidovou hladinu kortikosteronu (Hau et al. 2010), což by mohlo souviset s jejich nižší intenzitou metabolismu (Wiersma et al. 2007a). Tato studie tedy naznačuje, že zatímco větší druhy mají méně intenzivní reakci na stresové vlivy, tak u stejně velkých druhů mají intenzivnější reakci druhy s delší dobou života.

Podobně další studie (Jessop et al. 2013) sledovala vztah reakce mezi intenzitou stresové reakce, velikostí těla u ptáků a zemskou šířkou. Studie sledovala hladiny glukokortikoidů v reakci na stresory. Na rozdíl od předchozí studie nebyla mezi velikostí těla intenzitou stresové reakce u ptáků žádná korelace pozorována. Intenzita stresové reakce vykazovala pozitivní korelaci s latitudou, což naznačuje, že tropičtí ptáci mají reakci na stres nižší než ptáci z vyšších zemských šířek (Jessop et al. 2013). Tento výsledek je odlišný od výsledku předchozí studie (Hau et al. 2010), ve které nebyl rozdíl mezi tropickými a temperátními ptáky ve stresových koncentracích kortikosteronu pozorován.

Z uvedených studií je tedy patrná souvislost mezi stresovou odpovědí a délkou života. Stále zvýšené hladiny stresových hormonů v případě krátkověkých druhů mohou negativně korelovat s délkou života. Rozpor, který ale předkládají studie Hau et al. (2010) a Jessop et al. (2013) bude vyžadovat další studium pro upřesnění jejich výsledků.

9 Význam imunity:

Na funkci a efektivitu fyziologických procesů má vliv kondice a zdravotní stav organismu. Udržení vnitřních orgánů v dobré kondici a jejich obranu před patogeny z vnějšího prostředí má na starosti imunitní systém, jehož efektivita se přímo odráží na stavu a míře stárnutí jednotlivých orgánů.

Imunitní systém má dvě hlavní části (specifickou a nespecifickou), které se liší svou účinností vůči patogenům a také svou specifitou a také konkrétními buňkami imunitního systému, protilátkami a mechanismy obrany.

9.1 Nespecifická část imunitního systému

Nespecifické, neboli neadaptivní či vrozené, imunitní mechanismy jsou evolučně starší a jsou založené na předem připravených buňkách a molekulách, které jsou v organismu udržovány ve stále aktivním stavu. Tyto mechanismy jsou účinné proti širokému spektru patogenů a reagují na jejich společné strukturní rysy. Reakce nespecifické imunitní odpovědi je většinou velmi rychlá v řádu několika minut až hodin. Tyto systémy ale nemají, na rozdíl od specifické imunity, imunologickou paměť.

Neadaptivní imunitní mechanismy jsou zastoupeny především fagocytujícími buňkami a buňkami cytotoxickými, jako jsou například NK-buňky (*natural killers* - „přirození zabíječi“). Humorální součástí těchto systémů tvoří komplement, interferony, lektiny a další sérové proteiny (Hořejší a Bartůňková 2009).

9.2 Specifická část imunitního systému

Tyto systémy jsou evolučně podstatně mladší než nespecifické. Každý patogen má své specifické molekuly (antigeny), na které tyto systémy reagují. Specifická imunitní reakce je podstatně pomalejší než nespecifická. K jejich aktivaci je nutné, aby se buňky specifické imunity s patogenem nejdříve setkaly a mohlo dojít k namnožení odpovídajících buněk a produkci specifických protilátek.

Do těchto mechanismů patří vysoce specializované molekuly a antigenně specifické receptory T-lymfocytů. V organismu je přítomno velké množství (desítky miliónů) různých antigenně specifických B a T-lymfocytů, což zaručuje, že se alespoň některé buňky zapojí do imunitní reakce. Ty se po setkání s příslušným antigenem se odpovídající buňky začnou dělit a imunitní odpověď se aktivuje.

B-lymfocyty jsou buňky imunitního systému rozpoznávající patogeny a následně po pomnožení a přeměně na plazmatické buňky produkují protilátky – imunoglobuliny. Imunoglobulinů je několik druhů lišící se svými řetězci, ze kterých se skládají (lehký a těžký imunoglobulinový řetězec). Imunoglobuliny vyprodukované B-lymfocyty opsonizují patogeny a označují je tak dalším součástí imunitního systému, jako jsou makrofágy.

T-lymfocyty jsou imunitní buňky vznikající v kostní dřeni, kterou opouštějí před dozráním a přesouvají se do brzlíku, kde dozrávají. Některé z těchto buněk mohou ničit buňky těla vlastní, jsou-li tyto napadené viry, nebo pokud podlehly rakovinnému bujení. Tělu vlastní buňky na svém povrchu vystavují MHC glykoproteiny (glykoproteiny hlavního histokompatibilního komplexu, anglicky *major histocompatibility complex*), v případě že vystavují správné proteiny, imunitní systém si jich nevšímá. Při vystavení cizorodých antigenů navázaných na MHC glykoproteiny jsou takovéto vlastní buňky z těla prostřednictvím T-lymfocytů odstraněny. Jiné typy T-lymfocytů mají regulační efekt na vlastní imunitní systém a regulují ostatní buňky (B a T-lymfocyty), aby nenapadaly vlastní tkáň (Hořejší a Bartůňková 2009).

9.3 Imunitní systém, velikost těla a délka života

Maximalizace efektivity imunity nejspíš zahrnuje velké kompromisy v přerozdělování zdrojů mezi vrozenou a získanou složkou (Lee et al. 2006). Některé studie předpokládají, že by živočichové měli investovat poměrně více zdrojů do adaptivních systémů, ačkoliv je tato imunitní obrana velmi náročná na údržbu (očekává se vystavení patogenů po celý život). Naproti tomu druhy s rychlým životním tempem by měly investovat více do neadaptivní složky imunity, jelikož takto mají větší pravděpodobnost odolání infekci při prvním setkání. Díky krátké době života pro ně navíc není příliš důležitá imunologická paměť, které je schopná adaptivní složka imunity (Martin et al. 2008).

Předchozí tvrzení podporuje například studie na šesti druzích savců s rozdílnými životními strategiemi (Previtali et al. 2012). Autoři, ve shodě s výše uvedenou hypotézou, pozorovali nejvyšší adaptivní protilátkovou odpověď na lipopolysacharidy, které se vyskytují na povrchu patogenů, u druhu s nejrychlejší životní strategií a nejnižší u druhu s nejpomalejší životní strategií. V případě nespecifické schopnosti zabíjení bakterií dopadl naopak druh s nejpomalejší životní strategií nejhůře, zatímco zástupci rychlých životních strategií nejlépe. Tyto výsledky podporují výše uvedenou hypotézu.

V nedávné studii byla tato hypotéza dále testována na 105 druzích ptáků (Pap et al. 2015). V této studii velikost těla pozitivně korelovala se všemi imunologickými ukazateli. Větší druhy měly konkrétně více heterofilů, lymfocytů i bílých krvinek obecně, vyšší koncentrace přirozených protilátek a vyšší aktivitu komplementu. Nezávisle na tělesné velikosti korelovaly zmíněné ukazatele pozitivně s délkou embryonálního vývoje a negativně s délkou mláděcí periody. Vzhledem k tomu, že druhy s pomalými životními strategiemi mají relativně kratší embryonální období s prodlouženou dobou postembryonálního vývoje (Remeš a Martin 2002), naznačují tyto výsledky, že tyto druhy investují méně do vrozených imunitních funkcí, jako je nespecifická antibakteriální aktivita či aktivita komplementu. To je v souladu s výše zmíněnou hypotézou. Naopak pozitivní korelace těchto nespecifických imunitních funkcí s velikostí těla a jejich negativní korelace s BMR, jež byly v této studii pozorovány, sice také nepřímo naznačují možný vztah imunity a délky života, ale v opačném směru, než navrhuje zmíněná hypotéza.

10 Závěr

Studium mechanismu stárnutí je předmětem mnoha výzkumů. V této práci jsem se pokusil představit některé z hlavních adaptací živočichů související s délkou života. Mezi tyto adaptace patří metabolický obrat, odolnost k oxidačnímu stresu, zkracování telomer, a intenzita stresové a imunitní odpovědi.

Vztah intenzity metabolického obratu a velikosti těla je nepopíratelný. Nejvyšší intenzitu hmotnostně specifického metabolického výdeje pozorovala většina studií u malých živočichů, kteří se také dožívají nižšího věku než jejich větší příbuzní. V případě ptáků vyžaduje jejich aktivní způsob života vyšší metabolickou aktivitu, než je tomu u podobně velkých savců. Tato korelace však může být pouze artefaktem použití hodnoty metabolického obratu vypočtené jako podíl celkového metabolického obratu a tělesné hmotnosti, který nezohledňuje geometrické škálování metabolického obratu na tělesné velikosti. Většina studií kontrolující na tělesnou velikost přímo ve statistickém modelu totiž signifikantní korelaci nezjistila, případně byla tato korelace negativní. Tyto studie naznačují, že intenzita metabolismu pravděpodobně délku života nelimituje.

Oxidační poškození způsobují volné reaktivní druhy kyslíku, dusíku a karboxylů, které se dále podílí na poškozování buněčných součástí (především membrán). Dlouhověcí živočichové na ně musí být náležitě adaptováni. Dostupné studie naznačují, že hlavním mechanismem zajišťujícím vyšší odolnost k oxidačnímu poškození u dlouhověkých druhů je především evoluce odolných buněčných struktur. V případě krátkověkých druhů hraje významnou roli ochrana reprodukčních orgánů využitím mnoha antioxidantů, jejichž hladiny negativně korelují s velikostí těla a délkou života. Vztahy mezi délkou života a redoxním stavem organismu jsou však velmi složité a jejich pochopení bude vyžadovat ještě mnoho úsilí.

S variabilitou v délce života také pravděpodobně souvisí délka a rychlost zkracování telomer. U většiny živočichů se telomery zkracují celý život, avšak s rozdílnou rychlostí. U dlouhověkých druhů bylo pozorováno pomalejší zkracování než u druhů krátkověkých. V některých studiích bylo u dlouhověkých druhů pozorováno jejich prodloužení. Nelze však vyloučit, že toto „prodloužení“ telomer je pouze metodickou chybou, což by měl osvětlit další výzkum v této oblasti. Vztah mezi rychlostí zkracování

telomer a délkou života by měl být také potvrzen dalšími studiemi zahrnujícími větší počet druhů.

Adaptací související s délkou života je pravděpodobně také intenzita stresové odpovědi zprostředkovaná prostřednictvím vyplavení stresových hormonů. Tyto hormony pomáhají udržet organismus v připraveném stavu a udržují stálost vnitřního prostředí. Vnímavost při vystavení stresové situaci a následná efektivní odpověď má zásadní podíl na intenzitě stárnutí. Dostupné studie naznačují, že krátkověké druhy mají sníženou reakci na stres, avšak permanentně zvýšenou hladinou stresových hormonů, pravděpodobně v souvislosti s vyšším metabolickým výdejem. V případě dlouhověkých druhů je odpověď na stresové vlivy zvýšená, což pravděpodobně souvisí s větším významem přežívání pro fitness u těchto druhů.

Životní strategie druhu je do značné míry ovlivněna vnějšími vlivy. Mimo dostupnosti zdrojů a predace je významným faktorem přítomnost patogenů a parazitů, kde hraje zásadní roli imunitní systém. Studie naznačují, že v případě krátkověkých druhů jsou zdroje alokovány ve prospěch neadaptivních (nespecifických) imunologických systémů, které působí okamžitě a proti široké škále patogenů. Tato nespecifická část imunitního systému je energeticky méně náročná než specifická část, není ale tolik účinná. Dlouhověké druhy naproti tomu investují nemalé množství zdrojů do vývoje specifických mechanismů, které zahrnují mimo jiné paměťové buňky, které se po prvním vystavení patogenu teprve aktivují, a tato odpověď je proti nespecifické při prvním setkání s patogenem opožděná. Imunitní systém dlouhověkých druhů je však díky ní adaptován na opakované setkávání se s patogeny, na rozdíl od krátkověkých, u nichž je pravděpodobnost opakované infekce díky krátké době života nižší.

Evoluce délky života není dodnes zcela pochopena a můžeme doufat, že budoucí studie nám pomohou tento složitý fenomén více pochopit. Lze předpokládat, že existuje množství dalších adaptací, které s délkou života souvisí a jejichž existence a význam na své objevení teprve čekají.

11 Seznam použité literatury

(učebnice a sekundární citace jsou označeny *)

- *Alberts, B. (2001). *Základy buněčné biologie : úvod do molekulární biologie buňky*. Espero Publishing, Ústí nad Labem
- Aledo, J. C., Li, Y., de Magalhães, J. P., Ruíz-Camacho, M., & Pérez-Claros, J. A. (2011). Mitochondrially encoded methionine is inversely related to longevity in mammals. *Aging Cell*, 10(2), 198–207.
- Beehner, J. C., & Bergman, T. J. (2017). The next step for stress research in primates: To identify relationships between glucocorticoid secretion and fitness. *Hormones and Behavior*, 91, 68–83.
- Bjelland, S. (2003). Mutagenicity, toxicity and repair of DNA base damage induced by oxidation. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 531(1–2), 37–80.
- Blackburn, E. H. (2000). Telomere states and cell fates. *NATURE* www.nature.com, 408(2).
- Bókony, V., Lendvai, Á. Z., Liker, A., Angelier, F., Wingfield, J. C., & Chastel, O. (2009). Stress Response and the Value of Reproduction: Are Birds Prudent Parents? *The American Naturalist*, 173(5), 589–598.
- Bozek, K., Khrameeva, E. E., Reznick, J., Bennett, N. C., Lewin, G. R., Khaitovich, P. et al. (2017). Lipidome determinants of maximal lifespan in mammals. *Scientific Reports*, 7(1), 5.
- Brand, M. D., Affourtit, C., Esteves, T. C., Green, K., Lambert, A. J., Miwa, S., Parker, N. et al. (2004). Mitochondrial superoxide: production, biological effects, and activation of uncoupling proteins. *Free Radical Biology and Medicine*, 37(6), 755–767.
- Breuner, C. W., Patterson, S. H., & Hahn, T. P. (2008). In search of relationships between the acute adrenocortical response and fitness. *General and Comparative Endocrinology*, 157(3), 288–295.
- Campisi, J., Kim, S.H., Lim, C.S. Rubio, M., (2001) Cellular senescence, cancer and aging: the telomere connection. *Exp. Gerontol.* 36, 1619-1637.
- Calhoon, E. A., Jimenez, A. G., Harper, J. M., Jurkowitz, M. S., & Williams, J. B. (2014). Linkages between Mitochondrial Lipids and Life History in Temperate and Tropical Birds. *Physiological and Biochemical Zoology*, 87(2), 265–275.
- Cohen, A. A., McGraw, K. J., Wiersma, P., Williams, J. B., Robinson, W. D., Robinson, T. R., Ricklefs, R. E. et al. (2008). Interspecific Associations between Circulating Antioxidant Levels and Life-History Variation in Birds. *The American Naturalist*, 172(2), 178–193.
- Dantzer, B., & Fletcher, Q. E. (2015). Telomeres shorten more slowly in slow-aging wild animals than in fast-aging ones. *Experimental Gerontology*, 71, 38–47.

- Davison, T. F. (T. F., Kaspers, B., & Schat, K. A. (Karel A. (2008). *Avian immunology*. Elsevier/Academic Press.
- Debier, C., & Larondelle, Y. (2005). Vitamins A and E: metabolism, roles and transfer to offspring. *British Journal of Nutrition*, 93(2), 153.
- de Madalhaes, J. P. , Costa, J. & Church, G. M. (2007). An Analysis of the Relationship Between Metabolism, Developmental Schedules, and Longevity Using Phylogenetic Independent Contrasts. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2007 February; 62(2): 149-160.
- Donnelly, R., White, A., & Boots, M. (2017). Host lifespan and the evolution of resistance to multiple parasites. *Journal of Evolutionary Biology*, 30(3), 561–570.
- Downes, C. P., Wolf, C. R., & Lane, D. (1999). *Cellular responses to stress*. Portland.
- Duchamp C, Chatonnt J, Dittmar A, barra H. 1993. Increased role of skeletal muscles in the cauprogemoc resúpmse tp glucagon of cold-acclimated ducklings. *Am J Physiol* 265:R1084-91.
- Echtay, K. S. (2003). A signalling role for 4-hydroxy-2-nonenal in regulation of mitochondrial uncoupling. *The EMBO Journal*, 22(16), 4103–4110.
- Feder, M. E., & Hofmann, G. E. (1999). Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: Evolutionary and Ecological Physiology. *Annual Review of Physiology*, 61(1), 243–282.
- Galtier, N., Blier, P. U., & Nabholz, B. (2009). Inverse relationship between longevity and evolutionary rate of mitochondrial proteins in mammals and birds. *Mitochondrion*, 9(1), 51–57.
- Galván, I., Naudí, A., Erritzøe, J., Møller, A. P., Barja, G., & Pamplona, R. (2015). Long lifespans have evolved with long and monounsaturated fatty acids in birds. *Evolution*, 69(10), 2776–2784.
- Goth, L. (2000) Lipid and carbohydrate merabolism in acatalasemia. *Clin Chem* 46: 564-566.
- *Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2007). *Free radicals in biology and medicine*.
- Hammers, M., Kingma, S. A., Bebbington, K., van de Crommenacker, J., Spurgin, L. G., Richardson, D. S., Komdeur, J. et al. (2015). Senescence in the wild: Insights from a long-term study on Seychelles warblers. *Experimental Gerontology*, 71, 69–79.
- Harman, D. (1956). Aging: a theory based on free radiál and radiation biology. *J. Gerontol*. 11, 298-300.
- Hau, M., Ricklefs, R. E., Wikelski, M., Lee, K. A., & Brawn, J. D. (2010). Corticosterone, testosterone and life-history strategies of birds. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277(1697), 3203–3212.
- Hausmann, M. F., Vleck, C. M., & Nisbet, I. C. T. (2003). Calibrating the telomere clock in common terns, *Sterna hirundo*. *Experimental Gerontology*, 38(7), 787–789.
- Harley, C. B., Futcher, A. B., & Greider, C. W. (1990). Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature*, 345(6274), 458–460.

- Heidinger, B. J., Blount, J. D., Boner, W., Griffiths, K., Metcalfe, N. B., & Monaghan, P. (2012). Telomere length in early life predicts lifespan. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(5), 1743–1748.
- Holmes, D., Flückiger, R., & Austad, S. (2001). Comparative biology of aging in birds: an update. *Experimental Gerontology*, 36(4–6), 869–883.
- Holmes, D., & Ottinger, M. (2003a). Birds as long-lived animal models for the study of aging. *Experimental Gerontology*, 38(11–12), 1365–1375.
- Holmes, D. J., Thomson, S. L., Wu, J., & Ottinger, M. A. (2003b). Reproductive aging in female birds. *Experimental Gerontology*, 38(7), 751–756.
- *Hořejší, V., & Bartůňková, J. (2009). *Základy imunologie*. Triton.
- Hudson, L. N., Isaac, N. J. B., & Reuman, D. C. (2013). The relationship between body mass and field metabolic rate among individual birds and mammals. *Journal of Animal Ecology*, 82(5), 1009–1020.
- Hulbert, A. J., Pamplona, R., Buffenstein, R., & Buttemer, W. A. (2007). Life and Death: Metabolic Rate, Membrane Composition, and Life Span of Animals. *Physiological Reviews*, 87(4), 1175–1213.
- Hulbert, A. J., Kelly, M. A., & Abbott, S. K. (2014). Polyunsaturated fats, membrane lipids and animal longevity. *Journal of Comparative Physiology B*, 184(2), 149–166.
- Chappel MA, Bech C, Buttemer WA. 1999. The relationship of central and peripheral organ masses to aerobic performance variation in house sparrows. *J Exp Biol* 202:2269-79.
- Jacques-Hamilton, R., Hall, M. L., Buttemer, W. A., Matson, K. D., Gonçalves da Silva, A., Mulder, R. A., & Peters, A. (2017). Personality and innate immune defenses in a wild bird: Evidence for the pace-of-life hypothesis. *Hormones and Behavior*, 88, 31–40.
- Jessop, T. S., Woodford, R., & Symonds, M. R. E. (2013). Macrostress: do large-scale ecological patterns exist in the glucocorticoid stress response of vertebrates? *Functional Ecology*, 27(1), 120–130.
- Jimenez, A. G., Cooper-Mullin, C., Calhoon, E. A., & Williams, J. B. (2014a). Physiological underpinnings associated with differences in pace of life and metabolic rate in north temperate and neotropical birds. *Journal of Comparative Physiology B*, 184(5), 545–561.
- Jimenez, A. G., Van Brocklyn, J., Wortman, M., & Williams, J. B. (2014b). Cellular Metabolic Rate Is Influenced by Life-History Traits in Tropical and Temperate Birds. *PLoS ONE*, 9(1), e87349.
- Jimenez, A. G., & Williams, J. B. (2014). Cellular metabolic rates from primary dermal fibroblast cells isolated from birds of different body masses. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 176, 41–48.
- Jobson, R. W., Nabholz, B., & Galtier, N. (2010). An Evolutionary Genome Scan for Longevity-Related Natural Selection in Mammals. *Molecular Biology and Evolution*, 27(4), 840–847.

- Kirkwood, T.B.L. and M Rm Rose. (1991) Evolution of senescence: late survival sacrificed for reproduction. *Philos Trans R Soc B* 332:15-24.
- Lambert, A. J., Boysen, H. M., Buckingham, J. A., Yang, T., Podlutzky, A., Austad, S. N., Brand, M. D. et al. (2007). Low rates of hydrogen peroxide production by isolated heart mitochondria associate with long maximum lifespan in vertebrate homeotherms. *Aging Cell*, 6(5), 607–618.
- Lee, K. A. (2006). Linking immune defenses and life history at the levels of the individual and the species. *Integrative and Comparative Biology*, 46(6), 1000–1015.
- Lemaitre, J.-F., Berger, V., Bonenfant, C., Douhard, M., Gamelon, M., Plard, F., & Gaillard, J.-M. (2015). Early-late life trade-offs and the evolution of ageing in the wild. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1806), 20150209–20150209.
- *Lincová, D., & Farghali, H. (2007). *Základní a aplikovaná farmakologie*. Galén.
- Londoño, G. A., Chappell, M. A., Castañeda, M. del R., Jankowski, J. E., & Robinson, S. K. (2015). Basal metabolism in tropical birds: latitude, altitude, and the “pace of life.” *Functional Ecology*, 29(3), 338–346.
- Losdat, S., Helfenstein, F., Blount, J. D., & Richner, H. (2014). Resistance to oxidative stress shows low heritability and high common environmental variance in a wild bird. *Journal of Evolutionary Biology*, 27(9), 1990–2000.
- Maklakov, A. A., & Immler, S. (2016). The Expensive Germline and the Evolution of Ageing. *Current Biology*, 26(13), R577–R586.
- Mariadassou, M., & Pellay, F.-X. (2014). Identification of amino acids in mitochondrially encoded proteins that correlate with lifespan. *Experimental Gerontology*, 56, 53–58.
- *Matouš, B. (2010). *Základy lékařské chemie a biochemie*. Galén.
- McKechnie, A. E., & Wolf, B. O. (2004). The Allometry of Avian Basal Metabolic Rate: Good Predictions Need Good Data. *Physiological and Biochemical Zoology*, 77(3), 502–521.
- McNab, B. K. (2008). An analysis of the factors that influence the level and scaling of mammalian BMR. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 151(1), 5–28.
- McNab, B. K. (2009). Ecological factors affect the level and scaling of avian BMR. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 152(1), 22–45.
- Møller, A. P. (2008). Relative longevity and field metabolic rate in birds. *Journal of Evolutionary Biology*, 21(5), 1379–1386.
- Moskovitz, J., Bar-Noy, S., Williams, W. M., Requena, J., Berlett, B. S., & Stadtman, E. R. (2001). Methionine sulfoxide reductase (MsrA) is a regulator of antioxidant defense and lifespan in mammals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(23), 12920–12925.
- Nagy, K. A. (2005). Field metabolic rate and body size. *Journal of Experimental Biology*, 208(9), 1621–1625.

- Oers, K., Kohn, G. M., Hinde, C. A., & Naguib, M. (2015). Parental food provisioning is related to nestling stress response in wild great tit nestlings: implications for the development of personality. *Frontiers in Zoology*, 12(Suppl 1), S10.
- Okado-Matsumoto, A., & Fridovich, I. (2001). Subcellular Distribution of Superoxide Dismutases (SOD) in Rat Liver. *Journal of Biological Chemistry*, 276(42), 38388–38393.
- Pamplona, R. (1996). Low fatty acid unsaturation protects against lipid peroxidation in liver mitochondria from long-lived species: the pigeon and human case. *Mechanisms of Ageing and Development*, 86(1), 53–66.
- Pamplona, R., Portero-Otín, M., Sanz, A., Ayala, V., Vasileva, E., & Barja, G. (2005). Protein and lipid oxidative damage and complex I content are lower in the brain of budgerigar and canaries than in mice. Relation to aging rate. *AGE*, 27(4), 267–280.
- Pamplona, R., & Barja, G. (2007). Highly resistant macromolecular components and low rate of generation of endogenous damage: Two key traits of longevity. *Ageing Research Reviews*, 6(3), 189–210.
- Pamplona, R., & Costantini, D. (2011a). Molecular and structural antioxidant defenses against oxidative stress in animals. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 301(4), R843-63.
- Pamplona, R., & Costantini, D. (2011b). Molecular and structural antioxidant defenses against oxidative stress in animals. *AJP: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 301(4), R843–R863.
- Pap, P. L., Vágási, C. I., Vincze, O., Osváth, G., Veres-Szászka, J., & Czirják, G. Á. (2015). Physiological pace of life: the link between constitutive immunity, developmental period, and metabolic rate in European birds. *Oecologia*, 177(1), 147–158.
- Pauliny, A., Wagner, R. H., Augustin, J., Szép, T., & Blomqvist, D. (2006). Age-independent telomere length predicts fitness in two bird Species. *Molecular Ecology*, 15(6), 1681–1687.
- Pearl R. 1928. *The rate of living*. New York: Knopf.
- Plot, V., Criscuolo, F., Zahn, S., & Georges, J.-Y. (2012). Telomeres, Age and Reproduction in a Long-Lived Reptile. *PLoS ONE*, 7(7), e40855.
- *Pough, F. H. (1980). The Advantages of Ectothermy for Tetrapods. *The American Naturalist*, 115(1), 92–112.
- Previtali, M. A., Ostfeld, R. S., Keesing, F., Jolles, A. E., Hanselmann, R., & Martin, L. B. (2012). Relationship between pace of life and immune responses in wild rodents. *Oikos*, 121(9), 1483–1492.
- Ricklefs, R. E. (1992). Embryonic development period and the prevalence of avian blood parasites. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(10), 4722–4725.
- Ricklefs RE Wikelski M. (2002) The fysiology/life-history nexus. *Trends Ecol Evol* 17:462-8.

- Reale, D., Garant, D., Humphries, M. M., Bergeron, P., Careau, V., & Montiglio, P.-O. (2010). Personality and the emergence of the pace-of-life syndrome concept at the population level. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1560), 4051–4063.
- Roved, J., Westerdahl, H., & Hasselquist, D. (2017). Sex differences in immune responses: Hormonal effects, antagonistic selection, and evolutionary consequences. *Hormones and Behavior*, 88, 95–105.
- Rose, RC, Bode AM.(1993) Biology of free radical scavengers: an evaluation of ascorbate. *FASEB J* 7: 1135-1142.
- Rubner, M.(1908) Das Problem der Lebensdauer und seiner Beziehungen zu, Wachstum, und Ernährung. *Munich: Oldenberg*.
- Sharpless, N. E., & DePinho, R. A. (2004). Telomeres, stem cells, senescence, and cancer. *Journal of Clinical Investigation*, 113(2), 160–168.
- Samuels, D. C. (2005). Life span is related to the free energy of mitochondrial DNA. *Mechanisms of Ageing and Development*, 126(10), 1123–1129.
- Speakman, J. R. (2005). Body size, energy metabolism and lifespan. *Journal of Experimental Biology*, 208(9), 1717–1730.
- Stearns, S.C., 1992. The Evolution of Life Histories. *Oxford University Press, New York*.
- Sudyka, J., Arct, A., Drobniak, S., Gustafsson, L., & Cichoń, M. (2016). Longitudinal studies confirm faster telomere erosion in short-lived bird species. *Journal of Ornithology*, 157(1), 373–375.
- Sudyka, J., Arct, A., Drobniak, S., Dubiec, A., Gustafsson, L., & Cichoń, M. (2014). Experimentally increased reproductive effort alters telomere length in the blue tit (*Cyanistes caeruleus*). *Journal of Evolutionary Biology*, 27(10), 2258–2264.
- *Štípek, S. (2000). *Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci*. Grada.
- Tidière, M., Gaillard, J.-M., Müller, D. W. H., Lackey, L. B., Gimenez, O., Clauss, M., & Lemaître, J.-F. (2015). Does sexual selection shape sex differences in longevity and senescence patterns across vertebrates? A review and new insights from captive ruminants. *Evolution*, 69(12), 3123–3140.
- Tucker VA. 1968. Respiratory exchange and evaporative water loss in the flying budgerigar. *J Expt Biol* 48:67-87.
- Vágási, C. I., Vincze, O., Pótra, L., Osváth, G., Marton, A., Bórbos, L., Pap, P. L. et al. (2016). Large-brained birds suffer less oxidative damage. *Journal of Evolutionary Biology*, 29(10), 1968–1976.
- Van Voorhies, W. A. (2002). The influence of metabolic rate on longevity in the nematode *Caenorhabditis elegans**. *Aging Cell*, 1(2), 91–101.
- Vaupel, J. W., Manton, K. G., & Stallard, E. (1979). The Impact of Heterogeneity in Individual Frailty on the Dynamics of Mortality. *Demography*, 16(3), 439.
- von Zglinicki, T. (2002). Oxidative stress shortens telomeres. *Trends in Biochemical Sciences*, 27(7), 339–344.

- Wallis, J. G., Watts, J. L., & Browse, J. (2002). Polyunsaturated fatty acid synthesis: what will they think of next? *Trends in Biochemical Sciences*, 27(9), 467–473.
- White, C. R., & Seymour, R. S. (2003). Mammalian basal metabolic rate is proportional to body mass^{2/3}. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(7), 4046–4049.
- White, C. R., Blackburn, T. M., & Seymour, R. S. (2009). Phylogenetically informed analysis of the allometry of mammalian basal metabolic rate supports neither geometric nor quarter-power scaling. *Evolution*, 63(10), 2658–2667.
- White, C. R., & Seymour, R. S. (2004). Does Basal Metabolic Rate Contain a Useful Signal? Mammalian BMR Allometry and Correlations with a Selection of Physiological, Ecological, and Life-History Variables. *Physiological and Biochemical Zoology*, 77(6), 929–941.
- Wiersma, P., Selman, C., Speakman, J. R., & Verhulst, S. (2004). Birds sacrifice oxidative protection for reproduction. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 271(Suppl_5), S360–S363
- Wiersma, P., Chappell, M. A., & Williams, J. B. (2007a). Cold- and exercise-induced peak metabolic rates in tropical birds. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(52), 20866–20871
- Wiersma, P., Munoz-Garcia, A., Walker, A., & Williams, J. B. (2007b). Tropical birds have a slow pace of life. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(22), 9340–9345.
- Wikelski, M., Spinney, L., Schelsky, W., Scheuerlein, A., & Gwinner, E. (2003). Slow pace of life in tropical sedentary birds: a common-garden experiment on four stonechat populations from different latitudes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270(1531), 2383–2388.
- Wilhelm Filho, D., Althoff, S. L., Dafré, A. L., & Boveris, A. (2007). Antioxidant defenses, longevity and ecophysiology of South American bats. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 146(1–2), 214–220.
- Williams, J. B., Miller, R. A., Harper, J. M., & Wiersma, P. (2010). Functional Linkages for the Pace of Life, Life-history, and Environment in Birds. *Integrative and Comparative Biology*, 50(5), 855–868.